The Iranian Journal of
Otorhinolaryngology
Vol.22, No.59, Spring-2010

مجله گوش،گلو، بینی و حنجره ایران،
دوره بیست و دوم، شماره پنجاه و نهم، بهار ۱۳۸۹

اثر مهاری سرومن گوش بر رشد قارچ‌های مولد اتومایکوزیس

دکتر کیوان کیاکجوری[۱]، *دکتر سعید مهدوی عمران[۲]، دکتر رمضان رجب‌نیا[۳]، دکتر شهریار اصغرزاده[۴]

[۱]استادیار گروه گوش، گلو و بینی، [۲]استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی،

[۳]استادیار گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، [۴]پزشک عمومی- دانشگاه علوم پزشکی بابل

خلاصه

مقدمه: درمان عفونت‌های قارچی گوش خارجی (اتومایکوزیس) که عمدتا توسط قارچ‌های فرصت‌طلب ایجاد می‌شود، معمولا با داروهای موضعی ضدقارچی صورت می‌گیرد. در بعضی مواقع حذف کامل بیماری به دلیل وجود عوامل زمینه‌ساز دشوار است. با توجه به این که در مورد نقش مهاری سرومن روی میکروارگانیسم‌ها نظرات متناقضی وجود دارد، تحقیق حاضر جهت مشخص نمودن نقش سرومن گوش افراد سالم در مهار قارچ‌های مولد اتومایکوزیس صورت گرفت.

روش‌کار: این مطالعه‌ی تجربی روی۶۰ نمونه ترشحات گوش افراد سالم شهر بابل انجام گرفت. در این بررسی اثر ضدقارچی محلول سرومن روی رشد ۴ گونه‌ی قارچی شامل آسپرژیلوس فومیگاتوس و نیجر و ایزوله بالینی و استاندارد کاندیدا آلبیکانس با استفاده از دو روش دیسک انتشاری و میکرودایلوشن انجام شد.

نتایج: محدوده‌ی سنی افراد شرکت‌کننده، بین ۲ تا ۸۵ سال بود. با استفاده از دیسک انتشاری۱۰ درصد از سرومن‌ها اثر ضدقارچی داشتند، در حالی که در روش میکرودایلوشن تمام نمونه‌های مورد آزمایش، اثرات ضدقارچی از خود بروز دادند. بیشترین اثر ضدقارچی بر روی آسپرژیلوس نیجر (۲۷ نمونه) و کمترین اثر بر روی دو سوش کاندیدا آلبیکانس (۱۶ نمونه) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: سرومن‌ها اثرات متفاوتی روی رشد قارچ‌ها داشته‌اند لذا بررسی بیشتر در مورد ترکیبات سرومن برای عرصه جدید در مطالعات بعدی ضروری است.

واژه‌های کلیدی: اتومایکوزیس، سرومن، قارچ

مقدمه

تخمین زده می‌شود بین ۲۵-۹ درصد از عفونت‌های گوش خارجی به خصوص در مناطق گرم و مرطوب، عامل قارچی داشته که عمدتا توسط قارچ‌های فرصت طلب شامل گونه‌های جنس آسپرژیلوس به خصوص آسپرژیلوس نیجر ایجاد می‌شود ضمن این که قارچ‌های دیگر از جمله کاندیدا آلبیکانس نیز در بروز چنین ضایعاتی نقش دارند (۳-۱).

عوامل زمینه‌ساز متعددی مثل نقص در سیستم دفاعی گوش، عفونت‌های باکتریایی، دستکاری در مجرای گوش، شنا، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و تغییر در کمیت و کیفیت سرومن گوش می‌توانند سبب مستعد نمودن فرد به اتومایکوزیس شود (۵،۴). اتومایکوزیس با خارج کردن توده‌های قارچی از گوش، اسیدی‌کردن محیط و استفاده‌ی موضعی از داروهای ضدقارچی قابل درمان است ولی در بعضی مواقع ریشه‌کن کردن و درمان قطعی بیماری نیاز به پی‌گیری طولانی دارد (۷،۶،۴). عده‌ای معتقدند سرومن یا واکس گوش که مخلوطی از ترشحات غدد مولد چربی و سرومن همراه با بقایای سلولی می‌باشد (۸)، خواص حفاظتی

*مولف مسئول: ایران، بابل، دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده‌ی پزشکی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی

mahdavios@yahoo.co.uk

تاریخ وصول: ۱۳۸۸/۱۱/۸ تاریخ تایید: ۱۳۸۹/۱/۲۱

(فیزیکی، شیمیایی و ایمونولوژیک) ضدمیکروارگانیسمی داشته و می‌تواند سبب مهار عفونت در کانال گوش خارجی شود (۹،۱۰). حتی در یک بررسی از سرومن به دست آمده از افراد سالم برای بهبود و درمان علایم بیماری درماتیت سبوروئیک عود کننده‌ی مزمن استفاده نمودند (۱۱). از طرف دیگر سرومن به دلیل دارا بودن ایمونوگلوبولین‌ها و لیزوزیم، به عنوان عامل پاک‌کننده و لیزکننده مطرح بوده و احتمالا باکتریواستاتیک می‌باشد لذا در بعضی از مطالعات پیشنهاد شده است که سرومن انسان، گوش خارجی را از طریق ایمونولوژیک در مقابل عفونت‌های باکتریایی و قارچی محافظت می‌کند (۹). در یک بررسی پپتیدها و پروتئین‌هایی از سلول‌های غدد ترشح کننده‌ی سرومن استخراج شده که اثرات ضدباکتریایی داشته و از کانال گوش خارجی محافظت می‌کنند (۱۲). در بررسی دیگر نیز مشخص شد که سرومن اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی علیه برخی باکتری‌ها و هم‌چنین کاندیدا آلبیکانس دارد (۱۳). مطالعه‌ای نشان داده که سوسپانسیون ۳ درصد سرومن دارای فعالیت ضدقارچی و ضدباکتریایی علیه برخی قارچ‌ها و باکتری‌ها بوده و این فرضیه را تایید می‌کند که سرومن، ارگانیسم‌های خارجی وارده به گوش را از بین می‌برد (۱۴).

البته نظریات مخالفی نیز وجود دارند که بیان می‌کنند سرومن گوش قادر به جلوگیری از عفونت نیست زیرا وجود مواد مغذی در جرم گوش مانند اسیدهای آمینه، اسیدچرب، کلسترول، تری‌گلیسرید و بسیاری دیگر سبب رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌گردد (۹،۱۵). از طرفی اگرچه جرم طبیعی گوش نقش حفاظتی در مقابل باکتری‌ها دارد ولی جرم متراکم قدیمی می‌تواند شبیه محیط کشت عمل نموده و سبب اوتیت خارجی شود (۱۰). در یک بررسی دیگر مشخص شد که سرومن فرم خشک در آزمایشگاه به طور قابل توجهی باعث افزایش رشد باکتری‌ها شده و بر همین اساس نظریه‌ی کاهش رشد باکتری‌ها به وسیله‌ی سرومن فرم خشک زیر سئوال می‌رود (۱۶).

با توجه به مطالب فوق که نتایج متناقضی را برای اثرات ضدقارچی سرومن مطرح نموده‌اند، لزوم انجام مطالعه‌ای بر روی سرومن گوش و بررسی اثرات ضد قارچی آن ضروری می‌نماید. از طرفی به دلیل این که تاکنون چنین مطالعه‌ای روی اثرات ضدمیکروارگانیسمی سرومن در ایران صورت نگرفته بود، به همین دلیل بر آن شدیم تا اثر ضدقارچی سرومن گوش افراد سالم مراجعه کننده به درمانگاه گوش، گلو و بینی بیمارستان شهید بهشتی بابل را در یک مطالعه‌ی بالینی آزمایشگاهی بررسی نماییم.

روش کار

بیماران و نمونه‌برداری: در این بررسی تعداد ۶۰ نمونه سرومن مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌گیری به صورت آسان بوده و مراجعه کنندگان به درمانگاه گوش،گلو و بینی بیمارستان شهید بهشتی که به تشخیص پزشک متخصص صرفا به دلیل داشتن جرم و توده در مجرای گوش خارجی جهت شستشو مراجعه کرده بودند وارد مطالعه شدند. بیماران با عفونت باکتریایی یا قارچی یا با سابقه‌ی عمل جراحی یا وجود تومور و یا هر گونه عارضه‌ای در گوش یا بیماری سیستمیک از مطالعه خارج شدند. سرومن‌ها از گوش افراد مراجعه‌کننده بعد از معاینه‌ی بالینی و بررسی تاریخچه‌ی بیماری توسط پزشک متخصص گوش،گلو و بینی و اطمینان از سالم بودن شخص، به کمک میکروسکوپ و با کمک ساکشن، کورت استریل و یا لوپ برداشته شد. در هنگام انجام این عمل از هیچ‌گونه مواد نرم‌کننده سرومن به دلیل احتمال اختلال در آزمایشات استفاده نشد. سرومن‌ها بلافاصله و در شرایط استریل به آزمایشگاه تخصصی قارچ‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل منتقل و تا شروع آزمایشات در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت انجام آزمایشات، قارچ‌هایی انتخاب شدند که در ایجاد اتومایکوزیس نقش بیشتری داشته‌اند که شامل آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیجر، کاندیدا آلبیکانس (سویه‌ی بالینی) و کاندیدا آلبیکانس استاندارد (PTCC5027) بودند. این قارچ‌ها با روش‌های معمول قارچ‌شناسی شناسایی و تایید شدند.

حل کردن سرومن‌ها در بافر: پس از توزین سرومن‌ها با استفاده

از ترازوی حساس طوری به آن بافر ۳۰ درصد گلیسرول (۳۰٪ گلیسرول، ۵٪ بیکربنات سدیم و ۷۰٪ آب با pH برابر ۸/۲-۷/۸) اضافه شد که غلظت سرومن در بافر ۱۰ درصد باشد. پس از تهیه محلولی یکنواخت، سرومن با استفاده از فیلتر باکتریولوژیک استریل شده و با کشت در محیط سابورو دکستروز آگار، استریل‌شدن آن‌ها مورد تایید قرار گرفت.

غربالگری فعالیت ضدقارچی سرومن به روش دیسک انتشاری: در این روش از کلنی‌های ۴۸ ساعته‌ی قارچ در محیط سابورو دکستروز آگار به همراه کلرامفنیکل سوسپانسیونی از مخمر یا کونیدیا با تعداد نهایی 1×10^{6} عدد در هر میلی‌لیتر به دست آمد. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون روی پلیت‌های استریل حاوی محیط سابورو دکستروز آگار و کلرامفنیکل با کمک آگاروز مذاب (حاوی۰/۶٪ آگاروز و ۰/۹٪ نمک طعام) کشت داده شد. آن گاه تعداد ۹ عدد دیسک کاغذی خام استریل (تهیه شده از شرکت پادتن طب- ایران) با قطر ۶/۴ میلی‌متر با فواصل مناسب در محیط کشت قرار گرفت و مقادیر ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵و ۳۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ درصد سرومن (۳۰ نمونه سرومن) به همراه نمونه‌ها شاهد بر روی دیسک‌ها اضافه گشت.

پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از آن هاله‌ی اطراف هر دیسک که نشانگر مهار قارچ توسط سرومن بود اندازه‌گیری شد.

بررسی اثر ضدقارچی سرومن به روش میکرودایلوشن: روش رقت‌سازی در حجم کم در محیط مایع از محیط RPMI1640 همراه با ال-گلوتامین بدون بی‌کربنات و حاوی شاخص تعیین اسیدیته (Gibco, USA) به همراه ۲ گرم در لیتر بی‌کربنات سدیم (Merck,Germany) و بافر ۳- (ان – مورفولینو) پروپان سولفونیک اسید یا (Sigma, Germany) به میزان ۳۴/۵۳ گرم در هر لیتر محیط کشت استفاده شد (۱۷). در هر ردیف از میکروپلیت الیزا، ۸ رقت دو برابری از سرومن (با غلظت نهایی۲۵٪-۰/۰۲٪) به همراه شاهدهای مثبت (حاوی سوسپانسیون قارچی)، منفی (حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سرومن) و حلال (بافر با غلظت مساوی اولین حفره) در نظر گرفته شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی حاوی 5×10^{3} عدد مخمر یا کونیدی در هر میلی‌لیتر به تمام حفرات غیر از شاهد منفی اضافه می‌شد. آزمایشات در ۲ سری برای هر قارچ تکرار شد و پلیت‌های حاوی نمونه و کنترل در گرمخانه (Heidolph Unimax 1010 Inkubator, Germany) با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و حرکت ۲۰۰ بار در دقیقه قرار داده شده و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند.

تعیین غلظت مهاری و کشندگی سرومن: برای تعیین حداقل غلظت مهاری و کشندگی رقت‌های سرومن، مقدار ۱۰ میکرولیتر از مخلوط همگن شده‌ی سوسپانسیون هر حفره‌ی شفاف، روی پلیت استریل (شرکت تجهیزات پزشکی سوپا–ایران) حاوی محیط کشت سابورو دکستروز آگار به همراه کلرامفنیکل تلقیح شد. برای پخش بهتر از آگاروز مذاب استفاده شد. پلیت‌های تلقیح شده در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت حداکثر ۴۸ ساعت نگهداری و پس از آن تعداد کلنی‌های رشد کرده در پلیت مربوط به نمونه شاهد مثبت و نمونه‌های سرومن شمارش شدند.

حداقل غلظت کشندگی[1] (MFC) یا کمترین غلظتی از سرومن که سبب مهار کامل رشد قارچ می‌شد و حداقل غلظت مهاری[2] (MIC) که سبب مهار۹۰ درصد و۵۰ درصد رشد قارچ می‌شد، مشخص گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: میانگین ناحیه‌ی مهاری (هاله‌ی شفاف) و فعالیت ضدقارچی سرومن به روش میکرودایلوشن توسط نرم افزار آماری SPSS و Minitab و روش‌های آماری Chi-square و ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

این مطالعه در سال ۸۷- ۱۳۸۶ بر روی ۶۰ مراجعه‌کننده به درمانگاه گوش، گلو و بینی انجام گرفت که از این تعداد ۲۸ نفر (۴۶/۷٪) مرد و ۳۲ نفر (۵۳/۳٪) زن با محدوده‌ی سنی ۲ تا ۸۵ سال بودند که بر میانگین سنی در کل افراد ۲۱/۱۰±۴۱/۰۲ سال بود (جدول ۱).

[1]Minimum Fungicidal Concentration (MFC)
[2]Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

جدول ۱- فراوانی نسبی و جنسی افراد شرکت کننده در نمونه‌های مورد بررسی

جنس	(درصد) تعداد	انحراف معیار ± میانگین سنی (سال)	طیف سنی (سال)
مرد	(۴۶/۷) ۲۸	۴۵/۷۱±۲۵/۱۷	۲-۸۵
زن	(۵۳/۳) ۳۲	۳۶/۹۱±۱۶/۰۷	۹-۷۴
جمع	(۱۰۰) ۶۰	۴۱/۰۲±۲۱/۱۰	۲-۸۵

نتایج مربوط به روش دیسک انتشاری: در ۲۱ محیط کشت از ۲۴۰ محیط کشت مورد آزمایش، کاهش رشد مشاهده شد که با افزایش مقدار سرومن بر روی دیسک‌های کاغذی، اثرات ضدقارچی سرومن هم بیشتر می‌شد. اکثر این نمونه‌ها مربوط به نمونه‌ی بالینی کاندیدا آلبیکانس و کاندیدا آلبیکانس استاندارد بود. با توجه به جدول تعیین حساسیت، کاندیدا آلبیکانس حساس‌ترین قارچ‌ها بوده است (جدول ۲).

جدول ۲- وضعیت حساسیت یا مقاومت قارچ‌ها به سرومن در روش دیسک انتشاری

وضعیت حساسیت	نام قارچ				
	آسپرژیلوس فومیگاتوس	آسپرژیلوس نیجر	کاندیدا آلبیکانس	کاندیدا آلبیکانس (استاندارد)	جمع
مقاوم*	۵۹	۵۸	۵۲	۵۰	۲۱۸
متوسط**	۱	۱	۴	۵	۱۱
حساس***	۰	۱	۴	۵	۱۰

*مقاوم: دارای هاله‌ی کمتر از ۷ میلی متر و یا رشد قارچ روی دیسک.

**متوسط: دارای هاله‌ی بین ۱۱- ۸ میلی‌متر.

*** حساس: دارای هاله‌ی مساوی یا بزرگ‌تر از ۱۲ میلی‌متر.

در ۱۰۷ محیط کشت نیز هیچ‌گونه کاهش یا افزایش رشدی در حضور سرومن دیده نشد که ۵ مورد آن مربوط به آسپرژیلوس فومیگاتوس، ۸ مورد مربوط به آسپرژیلوس نیجر، ۵۱ مورد مربوط به کاندیدا آلبیکانس و ۴۳ مورد مربوط به کاندیدا آلبیکانس استاندارد بود.

در ۱۱۱ محیط کشت افزایش رشد قارچ‌ها مشاهده شد که آسپرژیلوس فومیگاتوس و آسپرژیلوس نیجر هر کدام به ترتیب با ۵۴ و ۵۰ مورد بیشترین موارد افزایش رشد را نشان دادند. ۷ مورد از آن‌ها مربوط به کاندیدا آلبیکانس استاندارد بوده در حالی که کاندیدا آلبیکانس در هیچ‌کدام از محیط‌های کشت افزایش رشد نداشت. در تمام این محیط‌ها با افزایش مقدار سرومن روی دیسک‌های کاغذی، رشد قارچ‌ها بیشتر می‌شد و این افزایش رشد به صورت معنی‌داری در قارچ‌های رشته‌ای بیشتر بوده است (P=۰/۰۰۱).

نتایج مربوط به روش میکرودایلوشن: از آن جایی که کشت‌ها در دوسری انجام می‌شد برای محاسبه‌ی داده‌ها از میانگین ۲ سری کشت استفاده شد. سرومن‌ها در رقت ۲/۰۹±۰/۷۱ درصد دارای اثر کشندگی روی قارچ‌های مورد بررسی بودند. این اثر در رقت‌های حداقل ۰/۳۱ درصد و حداکثر ۲/۵ درصد دیده شد. اثر کشندگی سرومن تنها در ۲۴/۱۶ درصد از موارد مشاهده شد و در ۷۵/۸۴ درصد موارد سرومن، هیچ اثر کشندگی روی قارچ‌ها نداشت. اثر کشندگی سرومن‌ها روی آسپرژیلوس نیجر (۴۰٪) بیشتر از دیگر قارچ‌ها بوده است.

اثر ۹۰ درصد مهار رشد (MIC_{90}) درغلظت ۱/۶±۰/۸۳ درصد با حداقل ۰/۰۸ درصد و حداکثر ۲/۵ درصد مشاهده شد. در بین قارچ‌های مورد آزمایش آسپرژیلوس نیجر از بقیه‌ی قارچ‌ها حساس‌تر بود. در مهار ۵۰ درصد رشد قارچ‌ها (MIC_{50})، آسپرژیلوس فومیگاتوس حساس‌ترین قارچ‌ها بود.

در کل از ۱۲۰ سری رقت تهیه شده از سرومن‌ها، MFC در ۲۹ سری (با میانگین ۲/۰۹±۰/۷۱٪)، MIC_{90} در ۴۰ سری (با میانگین ۱/۶۰±۰/۸۳٪) و MIC_{50} در ۸۵ سری (با میانگین ۱/۳۴±۰/۸۱٪) مشاهده شد. در مجموع آسپرژیلوس نیجر با درصد ۶۱/۱۱ مهار رشد حساس‌تر از دیگر قارچ ها بوده است (جدول ۳). در ۲۴/۱۶ درصد از موارد (۲۹ سری) از رقت‌های بسیار کم سرومن که مربوط به قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس بود، رشد قارچ افزایش یافت. نتایج در دو روش میکرودایلوشن و دیسک انتشاری: نشان داد که در روش میکرودایلوشن در ۴۰ سری از ۱۲۰ سری رقت سرومن (۳۳/۳٪)، اثر مهاری بر قارچ‌ها با MIC_{90} مشاهده شد، در حالی که در روش دیسک انتشاری در ۲۲ محیط کشت از

۲۴۰ محیط کشت (۹/۲٪) اثرات مهاری سرومن مشاهده شد (P=۰/۰۱).

جدول ۳- اثر مهاری سرومن روی قارچ ها (به تفکیک نوع قارچ) به روش میکرودایلوشن

نوع قارچ	MFC (تعداد)	MIC_{90} (تعداد)	MIC_{50} (تعداد)
آسپرژیلوس‌فومیگاتوس	۲/۱۲*±۰/۶(۱۰)	۱/۶۳±۰/۸۷(۱۳)	۱/۲۵±۰/۸۳(۲۷)
آسپرژیلوس نیجر	۲/۱±۰/۷۴(۱۲)	۱/۵۱±۰/۸۲(۱۷)	۱/۰۸±۰ /۷۸(۲۶)
کاندیدا آلبیکانس	۱/۶۴±۱/۰۶(۴)	۱/۵۴±۰/۹۷(۷)	۱/۴۶±۰/۸(۱۶)
کاندیدالبیکانس‌استاندارد	۲/۵±۰ (۳)	۲/۰۸±۰/۷۲(۳)	۱/۷۵±۰/۶۱(۱۶)
مجموع از ۱۲۰ سری رقت	۲۹	۴۰	۸۵

*میانگین ± انحراف معیار

بحث

مطالعات متعددی به اثرات ضدباکتریایی سرومن پرداخته‌اند ولی مطالعات معدودی در مورد بررسی اثرات ضدقارچی سرومن به صورت اختصاصی و استاندارد انجام شده است. بررسی حاضر اثرات ضد قارچی سرومن گوش را به دو روش میکرودایلوشن و دیسک انتشاری مورد مطالعه قرار داده است. در روش میکرودایلوشن اثر غلظت‌های مختلف۳۰ نمونه‌ی سرومن بر روی قارچ‌های آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیجر، کاندیدا آلبیکانس و کاندیدا آلبیکانس استاندارد مورد بررسی قرار گرفت که هر ۳۰ مورد دارای MIC_{50}، ۲۳ مورد دارای MIC_{90} و ۲۰ مورد نیز دارای MFC بودند. در روش دیسک انتشاری نیز مقادیر مختلف ۳۰ نمونه سرومن بر روی قارچ‌های مذکور مورد بررسی قرار گرفت که تنها در ۷ مورد اثرات مهاری بر قارچ‌ها مشاهده شد.

نتایج مطالعه‌ی حاضر از این جهت که سبب مهار رشد قارچ‌ها شده است با معدود بررسی‌های صورت گرفته در این زمینه قابل مقایسه است و نقش حفاظتی سرومن را در جلوگیری از ابتلا به اوتیت خارجی تقویت می‌کند اگر چه عمده‌ی مطالعات صورت گرفته در زمینه‌ی نقش مهاری سرومن مربوط به اثرات ضد باکتریایی می‌باشد (۱۰).

در بررسی حاضر میزان مهار رشد قارچ ها ۷۰/۸ درصد بوده و اثر ضدکاندیدایی آن نیز ۵۳/۳ درصد بوده است، در حالی که در یک مطالعه‌ی صورت گرفته در این زمینه مشخص شده است که ۹۳/۵٪ از نمونه های سرومن اثرات ضد کاندیدایی داشتند (۱۳). علت این اختلاف به روش مطالعه و تفاوت در سویه گونه کاندیدا آلبیکانس برمی گردد چرا که در بررسی فوق از سرومن های فاقد هرگونه میکرواورگانیسم برای این کار استفاده می شد، در حالی که در مطالعه‌ی حاضر تمام سرومن‌هایی که از گوش افراد سالم استخراج شده بود مورد آزمایش قرار می‌گرفت. در بررسی دیگر این فرضیه مطرح شد که سرومن، میکروارگانیسم‌های گوش را از بین می‌برد (۱۴).

از بین روش‌های مختلفی که برای ارزیابی اثر مهاری مواد بر قارچ‌ها وجود دارد (۱۹،۱۸). در بررسی حاضر از دو روش استفاده شد و نتایج نشان داد که در روش میکرودایلوشن، سرومن اثر بیشتری بر قارچ ها نسبت به روش دیسک انتشاری دارد (P=۰/۰۱). در حالی که در روش دیسک انتشاری سرومن بیشتر به صورت مواد مغذی عمل کرده (به خصوص برای قارچ‌های رشته‌ای) و باعث افزایش رشد این قارچ‌ها می‌گردد.

دلیل نتایج متناقض بین روش دیسک انتشاری و روش میکرودایلوشن در مطالعه‌ی حاضر احتمالا به دلیل عدم نفوذ سرومن در محیط کشت نیمه جامد سابورو دکستروز آگار است. این امر به خصوص در مورد آسپرژیلوس نیجر و آسپرژیلوس فومیگاتوس که ساختمان رشته‌ای دارد بیشتر صدق می‌کند. چنان که در روش دیسک انتشاری از ۲۲ مورد محیط کشتی که اثر مهاری سرومن در آن‌ها مشاهده شد. ۱۹ مورد مربوط به کاندیدا آلبیکانس و کاندیدا آلبیکانس استاندارد بود که ساختمان رشته‌ای ندارند. در حالی که در روش میکرودایلوشن که قارچ‌ها در تماس مستقیم با سرومن بودند اثر مهاری (MIC_{50}) سرومن روی قارچ‌های رشته‌ای آسپرژیلوس نیجر و آسپرژیلوس فومیگاتوس بیشتر از قارچ‌های مخمری بود (P=۰/۰۰۲). نتایج بعضی از بررسی‌ها نشان داده است که باکتری‌ها در کنار سرومن رشد بهتری داشته و سرومن مورد آزمایش آن‌ها بیش از آن که اثر مهاری داشته باشند سبب رشد میکروارگانیسم در محیط کشت مایع شده بود (۱۶،۹). در بررسی حاضر نیز در تعدادی از نمونه‌ها افزایش رشد مشاهده شد.

به همین علت پیشنهاد شده است که سرومن افراد سالم به علت اثر تغذیه‌ای می‌تواند سبب رشد میکروارگانیسم‌ها شود. البته در بعضی از مطالعات، وجود مواد مغذی در گوش مانند اسیدهای آمینه، اسید چرب، کلسترول، تری‌گلیسیرید و بسیاری دیگر را سبب رشد باکتری ها و قارچ‌ها می دانند (۱۶،۱۵،۹). حتی وجود حساسیت بالاتر آسپرژیلوس نیجر نسبت به گونه‌های دیگر در بررسی حاضر، نشان دهنده‌ی حساسیت بیشتر ارگانیسم‌های بیماری‌زا نسبت به ارگانیسم‌های فرصت طلب می‌باشد. برای روشن شدن دلیل افزایش رشدی که در بعضی از رقت‌های پایین سرومن در روش دیسک انتشاری مشاهده شد نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری می باشد.

در نهایت اختلافات موجود در نتایج اثرات ضدارگانیسمی سرومن در مطالعات مختلف، می‌تواند ناشی از اختلاف در ترکیب سرومن افراد مورد مطالعه، سن بیمار، محیط کشت مورد استفاده ترکیبات مختلف مهاری هم‌چون لیزوزیم، وجود ایمونوگلبولین ها و ویرولانس میکرواورگانیسم‌ها موجود در سرومن باشد (۲۰،۱۰).

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که بعضی از سرومن‌ها رشد قارچ‌ها را به طور نسبی مهار کرده و در بعضی مواقع به عنوان محیط مناسب برای رشد قارچ ها عمل نموده است. لذا بررسی بیوشیمیایی مواد تشکیل دهنده‌ی سرومن این افراد ضروری می‌باشد تا با مقایسه‌ی این ترکیبات، بتوان ماده یا ترکیبی از مواد را که حاوی ماده‌ی موثر در پیش‌گیری از اتومایکوزیس باشد تولید نمود و با تولید این ماده می‌توان از آن در درمان بیماران مبتلا به اوتیت خارجی عود کننده‌ی قارچی استفاده کرد که این مورد توسط مولفین در حال بررسی و اجرا می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله لازم می دانند تا از حوزه‌ی معاونت تحقیقات و فن آوری به خاطر تامین مالی، همکاران درمانگاه گوش، گلو و بینی بیمارستان شهید بهشتی و خانم شفیعی و خانم محمدی کاردانان آزمایشگاه قارچ شناسی که در انجام مراحل مختلف این طرح کمک نمودند، تشکر و قدردانی نمایند. شایان ذکر است که این مطالعه با منافع شخصی نویسندگان ارتباطی ندارد.

References

1- Pontes ZB, Silva AD, Lima Ede O, Guerra Mde H, Oliveira NM, Carvalho MF, et al. Otomycosis: A retrospective study. Braz J Otorhinolaryngol 2009; 75(3): 360-70.

2- Araiza J, Canseco P, Bonifaz A. Otomycosis: Clinical and mycological study of 97 cases. Rev Laryngol Otol Rhinol 2006; 127(4): 251-4.

3- Dorko E, Jenca A, Orencak M, Viragova S, Pilipcinec E. Otomycoses of candidal origin in eastern Slovakia. Folia Microbiol (Praha) 2004; 49(5): 601-4.

4- Ho T, Vrabec JT, Yoo D, Coker NJ. Otomycosis: Clinical features and treatment implications. Otolaryngol Head Neck Surg 2006; 135(5): 787-91.

5- Yavo W, Kassi RR, Kiki-Barro PC, Bamba A, Kple T, Menan EI, et al. Prevalence and risk factors for otomycosis treated in the hospital setting in Abidjan (Ivory Coast). Med Trop 2004; 64(1): 39-42.

6- Jackman A, Ward R, April M, Bent J. Topical antibiotic induced otomycosis. Int J Pediatr Otorhynolaryngol 2005; 69(6): 857-60.

7- Driscoll PV, Ramachandrula A, Drezner DA, Hicks TA. Characteristics of cerumen in diabetic patients: A key to understanding malignant external otitis? Otolaryngol Head Neck Surg 1993; 109(4): 676-9.

8- Roeser RJ, Ballachanda BB. Physiology, pathophysiology and anthropology/epidemiology of human ear canal secretions. J Am Acad Audiol 1997; 8(6): 391-400.

9- Pata YS, Ozturk C, Akbas Y, Gorur K, Unal M, Ozcan C. Has cerumen a protective role in recurrent external otitis? Am J Otolaryngol 2003; 24(4): 209-12.

10- Campos A, Betancor L, Arias A, Rodriguez C, Hernandez AM, Lopez Aguado D, et al. The influence of human wet cerumen on candida albicans growth. J Mycol Med 1999; 9(1): 36-8.

11- Storrs LA. Management of the ear canal seborrhea with cerumen. Laryngoscope 1981; 91(8): 1231-3.

12- Stoeckelhuber M, Matthias C, Andratschke M, Stoeckelhuber BM, Koehler C, Herzmann S, et al. Human ceruminous gland: Ultra structure and histochemical analysis of antimicrobial and cytoskeletal components. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol 2006; 288(8): 877-84.

13- Lum CL, Jeyanthi S, Prepageran N, Vadivelu J, Raman R. Antibacterial and antifungal properties of human cerumen. J Laryngol Otol 2009; 123(4): 358-75.

14- Chai TJ, Chai TC. Bactericidal activity of cerumen. Antimicrob Agent Chemother 1980; 18(4): 638-41.

15- Osborne JE, Baty JD. Do patients with otitis externa produce biochemical different cerumen? Clin Otolaryngol Allied Sci 1990; 15(1): 59-61.

16- Campos A, Betancor L, Betancort L, Rodrguez C, Hernandez AM, Lopez Aguado D, Sierra A. Influence of human wet cerumen on the growth of common and pathogenic bacteria of the ear. J Laryngol Otol 2000; 114(12): 925-52.

17- Makimura K, Sudo T, Kudo M, Uchida K, Yamaguchi H. Development of reference procedures for broth micro dilution antifungal susceptibility testing of yeast with standardized end point determination. Microbiol Immunol 1998; 42(1): 55-9.

18- NCCLS M 27-A2. Reference methods for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved Standard 2002; 22(15): 1-59.

19- Tiwari HK, Sapkota D, Das AK, Sen MR. Assessment of different tests to detect methicillin resistant Staphylococcus aureus. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2009; 40(4): 801-6.

20- Sirigu P, Perra MT, Ferreli C, Maxia C, Turno F. Local immune response in the skin of the external auditory meatus: An immunohistochemical study. Microscop Res Tech 1997; 38(3): 329-34.